



**Oponentský posudek na PhD. disertaci Mgr. Jany Burianové (Ústav Experimentální
Medicíny AV ČR, 1. LK UK Praha)**

Doc. RNDr. Aleš Stuchlík, PhD.

Předložená disertační práce Mgr. Jany Burianové (školitel: RNDr. Jiří Popelář) se zabývá vlivem stárnutí na centrální část sluchového systému laboratorního potkana. Práci po nezbytných úvodních formalitách zahajuje český a anglický abstrakt s klíčovými slovy v angličtině i v češtině. Následuje vyčerpávající seznam zkratk, a literární úvod čítající 37 stran, který čtenáře velmi čtivě seznamuje s podrobnou neuroanatomíí sluchového systému na periférii i v centrálních částech sluchové dráhy a je doplněný řadou ilustrativních obrázků. Neuroanatomický úvod mě osobně připadl o něco méně záživný než popis např. výskytu neuropřenašečů, avšak zcela chápu, že k takové práci plně patří. Navíc autorka uvádí řadu detailních poznatků z recentních studií i klasických prací a neopomíjí ani některé savčí srovnávací aspekty. Dále autorka předkládá změny sluchového systému během ontogenetického vývoje a stárnutí, a neopomíjí ani kritické vývojové periody, které rozebírá komplexně a podrobně. Věnuje se také věkem podmíněné ztrátě sluchu (tzv. presbyakuzi), které představuje závažný lidský a medicínský problém a zahrnuje jak centrální tak periferní komponentu. V samotném závěru literárního úvodu autorka popisuje vliv stárnutí na behaviorální reakce vyvolané sluchovými podněty. Na stranách 38 až 40 autorka přehledně uvádí cíle práce, kterými bylo:

I. Vliv stárnutí na biochemické hladiny dvou isoformů enzymu glutamát dekarboxylázy (GAD65 a GAD67), která katalyzuje přeměnu glutamátu na kyselinu gama-aminomáselnou, jež může hrát roli v lokální inhibici a schopnosti selektivně zvýraznit relevantní zvuky.

II. Druhý cíl si kladl za úkol studovat stárnutím vyvolané změny u kalbindinu a kalretininu, dvou proteinů vázajících vápník, které se patrně podílejí na udržování nízkých hladin vápníku v buňkách a mohly by také přispívat k neuroplasticitě, a to nejen ve sluchovém systému.

III. cíl spočíval v měření zvukových odpovědí mozkového kmene (*auditory brainstem reaction*; ABR) a amplitudy úlekového reflexu vyvolaného akustických stimulem a jeho prepulzní inhibice.

IV. cíl sledoval ohlušení (8 minutovou expozici hluku) v kritické periodě vývoje na následné odpovědi mozkového kmene a zvukové podněty.

Ve studiích byly použity dva kmeny laboratorních potkanů a to přirozeně stárnoucí kmen Long-Evans a kmen Fischer 344 s akcelerovaným stárnutím. Výsledky ukázaly, že u obou kmenů dochází k signifikantnímu poklesu hladin GAD65 a GAD67 a také změnám imunoreaktivity na tyto enzymy v průběhu stárnutí. Déle byl prokázán pokles biochemický koncentrací a imunoreaktivity na kalbindin a kalretinin, což by mohlo naznačovat sníženou plasticitu centrální

části sluchového systému ve stáří. Autorka provedla i srovnání se zrakovou kůrou, kde byly změny podstatně nižší.

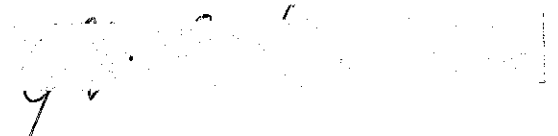
Mimořádně zajímavé výsledky přinesla i studie stanovování sluchového prahu metodou ABR, která prokázala, že i rychle stárnoucí potkani Fischer 344 ve středním věku měli tyto prahy zvýšené. Neméně zajímavé výsledky přinesla i behaviorální studie zaměřená a úlekový reflex a jeho prepulzní inhibici, kde bylo prokázáno, že u kmene Fischer 344 dochází k těmto změnám s rychlejší dynamikou než u kmene Long-Evans. Na závěr autorka provedla korelaci mezi výsledky z ABR a behaviorálními daty, čímž dospěla k závěru, že amplituda úlekové reakce a její prepulzní inhibice může být cenným vodítkem při stanovení deficitů centrální části sluchového systému, částečně oddělitelných od periferních změn. Vývojové část zaměřená na hlukovou expozici v kritické vývojové periodě také odhalila zajímavé a konkrétní změny.

Výsledky práce ukazují, že presbyakuze může minimálně v centrální části sluchového systému souviset se sníženou GABAergní inhibicí. Práce rovněž pomocí vpravdě fyziologického přístupu sledovala dynamiku změn v biochemii, imunohistochemii a behaviorálních funkcích souvisejících se sluchovým systémem. Diskuse nepomíjí žádné z aspektů nálezů získaných v této disertaci a považují ji za velmi kvalitní.

Součástí disertace jsou 4 původní publikace z toho jedna prvoautorská, v příloze jsou ještě 4 další publikací související s tématem sluchového systému. V práci nechybí ani souhrn výsledků v českém a anglickém jazyce a úctyhodných 377 referencí. Kromě několika překlepů nemám k disertaci závažnější připomínky, napadlo mě jen pár otázek.

1. V literárním úvodu autorka zmiňuje že, že aktivace GABA-A receptorů vede k hyperpolarizaci buňky? Je z literárních pramenů známo, že by v sluchovém systému např. i během vývoje) rozložení chloridových iontů vně a uvnitř membrány bylo vždy takové, že nevyhnutelně dochází k hyperpolarizaci? Jak je známo, efekt vazby GABA na GABA-A receptor je determinován přirozenou polaritou buněčné membrány a jejím vztahem k reverznímu potenciálu chloridových iontů.
2. Jsou z literatury známé údaje o (snad neurovývojové) funkci nevezikulárního (nekvantového výlevu GABA) ve funkci nervové soustavy, vzhledem k tomu, že autorka zmiňuje, že konstitutivní *knockout* enzymu GAB67 je letální?

Práci pokládám za vysoce kvalitní, po mém soudu prokazuje schopnosti autorky samostatně vědecky pracovat, a vřele ji doporučuji k obhajobě v Oborové radě Neurověd a udělení titulu PhD.


Doc. RNDr. Aleš Stuchlík, PhD

Fyziologický ústav AV ČR